

Komponen dan anti-bakteri dari fraksi kristal minyak *Zingiber zerumbet*

Component and antibacterial activity of crystal fraction from *Zingiber zerumbet* essential oil

Sri Mulyani

Fakultas Farmasi UGM

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komponen penyusun dan aktivitas anti-bakteri fraksi kristal minyak Lempuyang Gajah hasil distilasi uap dan air rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* Smith). Pemeriksaan komponen dilakukan dengan metode GC-MS menggunakan pelarut n-heksana sedang aktivitas anti-bakteri diujikan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 menggunakan metode difusi agar dengan pelarut minyak kelapa. Komponen penyusun yang dapat diidentifikasi adalah α -humulena, kariofilena oksida, β -selinena, dan zerumbona. Larutan fraksi kristal dalam minyak kelapa mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25923 pada kadar 25 % dan sampai kadar 50 % belum mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 35218.

Kata Kunci : *Zingiber zerumbet*, lempuyang gajah, fraksi kristal, anti bakteri

Abstract

The aims of the study was to determine of the crystal fraction from *Zingiber zerumbet* essential oils. The components examination was performed by GC-MS method using the solvent n-hexane and anti bacterial activity was tested against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 35218 using agar diffusion method with coconut oil solvent. The components that can be identified are α -humulene, caryophyllene oxide, β -selinene, and zerumbone. Crystal fraction solution able to inhibit of *S. aureus* ATCC 25923 at the concentration 25 % and up to 50 % has not been able to inhibit *E. coli* ATCC 35218.

Key words : *Zingiber zerumbet*, Lempuyang gajah, Crystal fraction, anti-bacterial

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keaneka-ragaman hayati, banyak memiliki berbagai jenis tanaman yang berkhasiat obat, di antaranya adalah tanaman-tanaman dari suku Zingiberaceae, marga Zingiber seperti *Zingiber officinale*, *Zingiber officiosii*, *Zingiber litorale*, *Zingiber aromaticum*, *Zingiber american*, *Zingiber odoriferum*, *Zingiber purpureum*, *Zingiber spectabilis*, *zingiber zerumbet* (Anonim, 1986). *Zingiber zerumbet* (lempuyang gajah), secara tradisional digunakan untuk mengobati sakit perut, kejang pada anak, sakit empedu, borok, kulit, diare, dan disentri (Anonim, 1986). Rimpang lempuyang gajah diketahui mengandung humulena (senyawa dari kelompok seskuiterpena), 5-hidroksi zerumbona,

oksida-zerumbona (Jang *et al.*, 2005), alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol, disamping minyak atsiri. Minyak atsirinya tersusun dari senyawa kelompok seskuiterpena dan terpena (Lechat vahirua *et al.*, 1993). Sedang menurut Agusta (2000), minyak atsiri lempuyang gajah tersusun dari α -pinena, kamfena, kariofilena, β -pinena, α -farnesena, sineol, dl-kamfor, isokariofilena, kariofilena-oksida, dan germakron. Beberapa penelitian aktivitas yang telah dilaporkan adalah mengenai efek anthelmintik terhadap cacing *Ascaris suum* dari ekstrak air dan minyak atsiri (Sukandar *et al.*, 1997). Ekstrak etanol dari rimpang dilaporkan memiliki aktivitas anti alergi, dengan mekanisme melalui Penghambatan enzim α -heksosaminidase

dengan mengacaukan aktivitas sel-sel RBL-243 (Tewtrakul and Subhadhirasakul, 2007). Oleh Sawangaroen *et al.*, (2006) dilaporkan bahwa ekstrak kloroform, air dan metanol memiliki aktivitas sebagai anti-amuba. Efek anti-bakteri dari minyak atsirinya, dilaporkan mampu menghambat dan membunuh *S. aureus*, pada kadar 0,0625 % v/v, tetapi sampai kadar 25 % tidak mampu menghambat /membunuh pertumbuhan *E. coli* (Bustanul, 2007).

Pada penyulingan minyak atsiri dari rimpang lempuyang gajah kering, pada saat air sulingan mendingin, terdapat kristal yang terpisah dari fase minyak maupun airnya (Bustanul, 2007). Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komponen dari fraksi kristal, serta menguji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Ahmad *et al.*, 2008 melaporkan bahwa dari distilasi uap rimpang segar *Z. zerumbet* diperoleh minyak atsiri yang apabila dialiri dengan air dingin akan diperoleh kristal secara spontan. Dari hasil purifikasi kristal dengan heksana diperoleh senyawa zerumbona. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. choleraesuis* yang resisten terhadap methicillin pada kadar 0,13 mg/mL, tetapi sampai kadar 13 mg/mL tidak memberikan hambatan terhadap *S. aureus* yang resisten terhadap methicillin. Aktivitas penghambatan ini ditetapkan dengan metode difusi menggunakan kertas samir.

Metodologi

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lempuyang gajah yang diperoleh dari pasar Beringharjo Yogyakarta, dan diidentifikasi di laboratorium Farmakognosi, Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM.

Alat

Bakteri uji : *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 35218. Bahan kimia: n-heksana (pa.), Media Nutrien Agar (NA) (Oxoid), minyak kelapa, Streptomisin 25 µg/mL. Alat : Seperangkat alat destilasi uap dan air, GCMS (Shimadzu QP 2010 S).

Cara penelitian

Rimpang lempuyang gajah yang telah bersih dirajang, dikeringkan menggunakan sinar matahari tak langsung, selanjutnya dilakukan destilasi minyak atsiri dengan metode distilasi uap dan air.

Distilat yang diperoleh selanjutnya dibiarkan mendingin, dan kristal yang terbentuk selanjutnya dipisahkan dari fase air dan minyak. Pemeriksaan komponen dari fraksi kristal dianalisis komponen penyusunnya dengan GC-MS dengan menggunakan pelarut n-heksana, kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 35218 dengan metode difusi teknik sumuran menggunakan pelarut minyak kelapa. Daya antibakterinya ditetapkan dari luas daerah hambatan yang ditimbulkan.

Jumlah sampel dalam sumuran = $20 \pi L$.

Kondisi GC-MS

Kolom Rastek RXi-5MS, panjang 30 m, diameter 0,25 mm, detektor FID. Suhu injektor 280° C, suhu kolom diprogram 70° (5 menit) – 270° C (15 menit) dengan kenaikan suhu diatur 10° C/menit. Kecepatan gas pembawa 3,0 mL/menit; tekanan 13,7 kPa. Kondisi GC-MS : *ion source temp* 250° C, *interface temp* 300° C dan *solvent cut time* 3 menit.

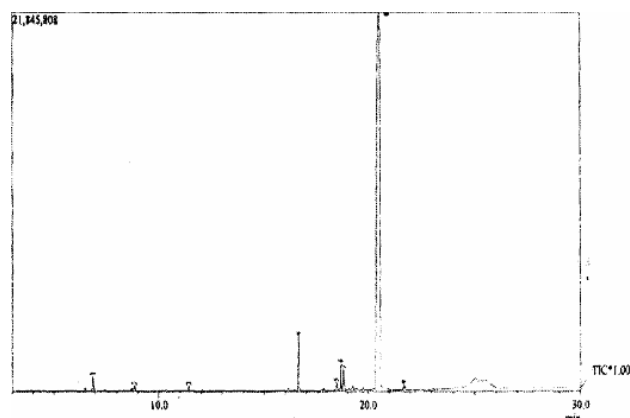
Spektra massa yang dihasilkan dianalisis dengan jalan membandingkan kesamaan spektra massa masing-masing komponen yang diidentifikasi dengan spektra massa dari pustaka Wiley and NIST (1966).

Hasil dan Pembahasan

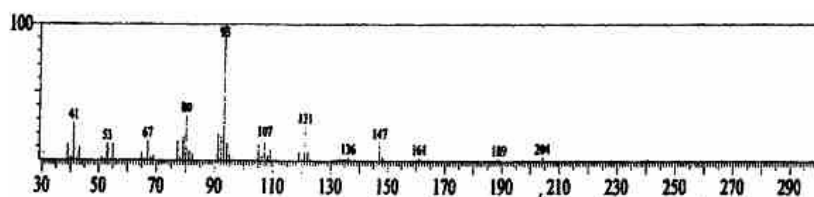
Dari satu kilogram rimpang kering dihasilkan 20 gram fraksi kristal. Dari analisis GC diperoleh 9 puncak dan 4 puncak dianalisis spektra massanya dan diidentifikasi sebagai α -humulena (puncak ke 4), kariofilena oksida (puncak ke 5), β -selinena (puncak ke 6), dan zerumbona (puncak ke 8).

Data waktu retensi, prosen area, dan jenis senyawa yang teridentifikasi tertera pada Tabel I. Kromatogram (TIC dari GC-MS), serta spektra massa dari komponen yang teridentifikasi beserta spektra massa dari pustaka tertera pada Gambar 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Hasil pemeriksaan aktivitas anti-bakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 35218 tertera pada Tabel II.

Dari hasil pemeriksaan antibakteri terlihat, bahwa fraksi kristal mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan *S. aureus* mulai kadar 25 % tetapi sampai dengan kadar 50 % tidak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Aktivitas ini sama dengan aktivitas dari minyak atsirinya yang hanya mampu menghambat/membunuh bakteri *S. aureus*, tetapi tidak mampu menghambat/membunuh *E. coli* (Bustanul, 2007).



Gambar 1. Kromatogram (TIC GC-MS) fraksi kristal Rimpang Lempuyang Gajah.



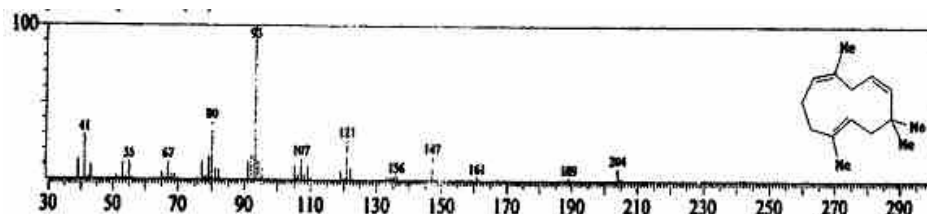
Gambar 2. Spektra massa komponen fraksi kristal puncak no 4 dari kromatogram Gambar 1 teridentifikasi sebagai α -humulena.

Tabel I. Waktu retensi, prosen area dan komponen fraksi kristal yang terpisah dari minyak dan air hasil distilasi Rimpang Lempuyang Gajah

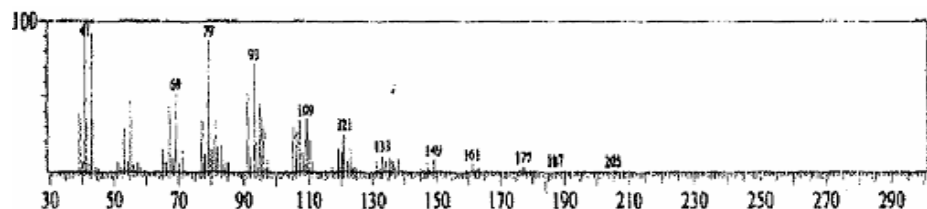
No.	Waktu retensi	Prosen Area	Komponen	SI
1	06,87	00,95	----	
2	08,84	00,28	----	
3	11,40	00,29	----	
4	16,65	03,63	α -Humulena	92
5	18,48	00,51	Kariofilena oksida	93
6	18,68	01,88	β -Selinena	83
7	18,83	01,44	----	
8	20,56	90,62	Zerumbona	93
9	21,71	00,42	----	

Menurut Bustanul (2007), minyak atsiri rimpang lempuyang gajah mampu menghambat/ membunuh bakteri *S. aureus* pada kadar 0,0625 %, sedang terhadap *E. coli* sampai dengan kadar 25 % belum mampu menghambat/membunuh pertumbuhan *E. coli*. Ahmad *et al.*, 2008 melaporkan bahwa kristal zerumbon dari *Z. zerumbet* sampai kadar

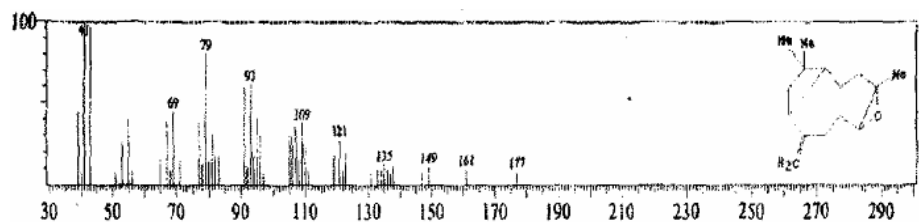
13 mg/mL belum mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* yang resisten terhadap methicillin. Adanya perbedaan kadar yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan *S. aureus* dapat disebabkan karena adanya perbedaan komposisi kimia antara minyak atsiri dan fraksi kristal ataupun juga metode yang digunakan untuk menguji aktivitas anti-bakterinya.



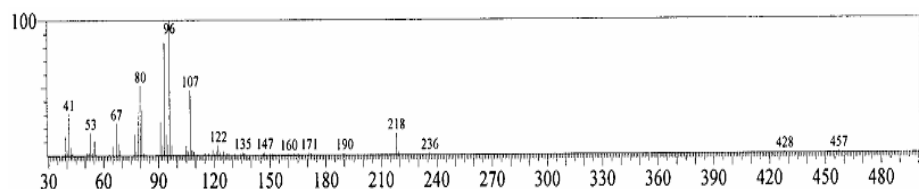
Gambar 3. Spektra massa dari alfa-Humulena (Wiley 7, LIB).



Gambar 4. Spektra massa komponen fraksi kristal puncak no 5 dari kromatogram Gambar 1 teridentifikasi sebagai Kariofilena oksida.



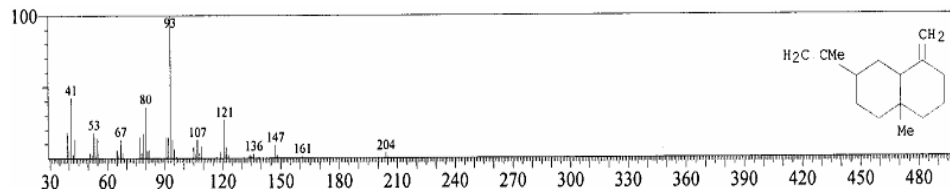
Gambar 5. Spektra massa dari Kariofilena oksida (NIST 62, LIB).



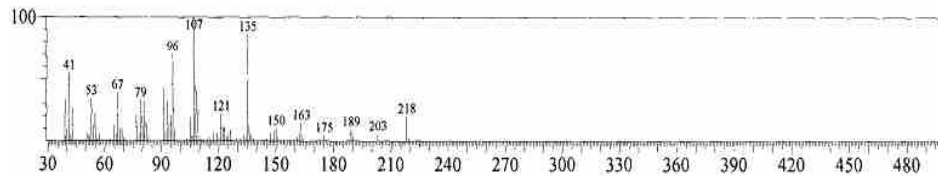
Gambar 6. Spektra massa komponen fraksi kristal puncak no 6 dari kromatogram Gambar 1 teridentifikasi sebagai Selinea.

Dalam minyak atsiri terdapat sineol dan kamfer yang tidak teridentifikasi dalam fraksi kristal, sedangkan zerumbona, β -selinena, α -humulena, dan kariofilena oksida (yang merupakan seskuiterpena yang ada di fraksi kristal) tidak terkandung pada minyak atsiri dari rimpang lempuyang gajah. Menurut Carson *et al.*, (2002), sineol mempunyai aktivitas anti-bakteri melalui mekanisme menurunkan toleransi *S. aureus* terhadap NaCl; yang akhirnya menyebabkan *S. aureus* kehilangan kemampuan untuk hidup

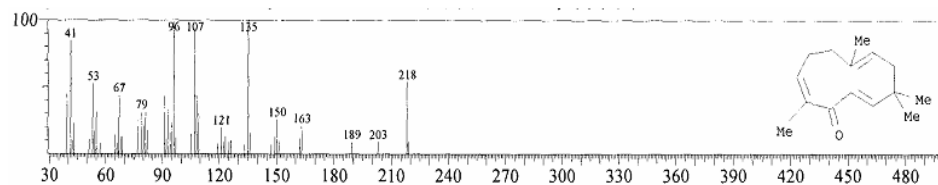
membentuk koloni pada media yang mengandung NaCl. Sedangkan kamfor yang merupakan monoterpena dengan gugus keton memiliki aktivitas anti-bakteri di bawah fenol, terpenoid aldehida, tetapi di atas terpenoid alkohol dan hidrokarbon (Knobloch *et al.*, 1986). Meskipun beberapa seskuiterpenoid yang teroksidasi (berupa keton) dapat ditemukan di dalam fraksi kristal seperti zerumbona dan kariofilena oksida, tetapi senyawa ini memiliki bobot molekul besar.



Gambar 7. Spektra massa dari Selinena (Wiley 229, LIB).



Gambar 8. Spektra massa komponen fraksi kristal puncak no 8 dari kromatogram Gambar 1 teridentifikasi sebagai Zerumbona.



Gambar 9. Spektra massa dari Zerumbona (Wiley 229, LIB).

Tabel II. Pemeriksaan aktivitas anti-bakteri fraksi kristal yang terpisah dari minyak dan air hasil distilasi Rimpang Lempuyang Gajah

Kadar fraksi dalam minyak kelapa	Diameter hambatan (mm)**	
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 35218
12,5 %	---	---
25 %	10 ±0,3	---
50 %	11 ±0,5	---
Streptomisin 25 µg/mL	17 ±1,4	15 ±1,2
Minyak kelapa	---	---

** termasuk diameter sumuran

Menurut Jawetz *et al.*, (1996), molekul-molekul dengan bobot molekul besar tidak dapat menembus membran dengan cara difusi pasif. Dengan demikian dapat dipahami, bahwa fraksi kristal memiliki aktivitas yang berbeda dengan minyak atsirinya dan dengan zerumbon murni.

Sedang Mohamad Syahrizal 2006 melaporkan bahwa zerumbol hasil pengubahan zerumbon (hasil fraksinasi dengan heksana dari minyak atsiri *Zingiber zerumbet*) dengan lithium aluminium hidrida pada suhu -5° hingga -10° C

mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada kadar 0,025 ug/uL dan *Pseudomonas aeruginosa* pada kadar 0,05 ug/uL. Sharifah Sakinah *et al.*, (2007) melaporkan bahwa senyawa zerumbona dari *Zingiber zerumbet* memiliki aktivitas antiproliferasi pada sel-sel HepG2 (sel kanker liver). Sedangkan Sharin (2006) melaporkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak aseton dan ekstrak etanol menunjukkan aktivitas anti-oksidan yang baik. Dengan demikian kemungkinan fraksi kristal yang

terpisah dari minyak dan air hasil distilasi *Zingiber zerumbet* ini memiliki aktivitas lain yang lebih baik dibanding aktivitas anti-bakterinya, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Komponen yang dapat diidentifikasi dari fraksi kristal yang terpisah dari air dan minyak hasil destilasi uap dan air rimpang lempuyang

gajah adalah α -humulena, kariofilena oksida, β -silenena, dan zerumbona.

Larutan dari fraksi kristal dalam minyak kelapa mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25923 pada kadar 25 % dan sampai kadar 50 % belum mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 35218.

Daftar Pustaka

- Agusta A, 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropik Indonesia, 89., ITB, Bandung
- Ahmad, B. A., Siddig, I. A., Adel, SAZ., Manal, M. E., and Syam M. M., 2008, Anticancer and Antimicrobial Activities of Zerumbone from the Rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *International Journal of Pharmacology* 4 (4), 301-304
- Anonim, 1986, Medicinal Herbs Index in Indonesia., PT Eisei Indonesia ., 348-349
- Bustanul, A., 2007, Uji Daya Antibakteri Minyak Atsiri Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218, Skripsi, Fakultas Kedokteran UGM.
- Carson, C. F, Mee, B. J., and Riley, T. V, 2002, Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time Kill, Lysis, Leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=127210>
- Jang, D. S., Min H. Y., Kim M. S., Han, A. R., Wudono, T., Jeohu G. H., Kong, S. S., Lee, S. K., and Seo, E. K, 2005, Humulens Derivative from *Zingiber zerumbet* with the Inhibitory Effect on Lipopolysaccharide-induced Nitric-oxide Production., *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 53 (7), 829-831. <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=1995/US/US95207.xml;US9443476>
- Jawets, E, Melnick, J. L, and Adelberg, E. A, 1996, Mikrobiologi Kedokteran., Edisi XX., 234-240, Diterjemahkan oleh Nugroho Edi dan Maulany., EGC. Jakarta.
- Knobloch, K, Weis, N., and Weigand, H., 1986, Mechanism of Antimicrobial Activity of Essential Oil, *Planta Medica* 6, 556.
- Lechat-Vahirua, I., Francois, P., Menut, C., Lamaty, G., and Bessiere, G. M., 1993, Essential oils from three Polynesian Zingiberaceae, *J Riv. Ital. EPPOS*, V 4, N spec. Num., p. 740-2. <http://www.google.co.id/#hl=id&sa=X&ei=L591TOX6M4KivQP5lpC2Bg&ved=0CBEQBSgA&q=Le+Chat-essential+oils+from+three+polynesian+zingiberaceae+&spell=1&fp=dc4b9ba5e001c2f8>
- Syahrizal, M., 2006, Kajian Kimia Zerumbon daripada *Zingiber zerumbet* Smith, Thesis Fakultas Sains Universiti Teknologi Malaysia. <http://eprints.utm.my/5325/>
- Sawangaroen, N., Phongpaichit, S., Subhadhirasakul, S., Vissuthi, M., Srisuwan, N., and Thammaphalerd, N., 2006, The Anti-amoebic Activity of Some Medicinal Plants Used by AIDS Patients in Southern Thailand, *Parasitol Res.* 98 (6) : 588-92. Epub 2006 Jan 31. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16447069>
- Sakinah, S., Tri Handayani., and Hawariah, A., 2007, Zerumbone Induced apoptosis in liver cancer cells via modulation of Bax/Bcl-2 ratio, *Cancer Cells International*, 7:4, doi: 10.1186/1475-2867.7-4. Pub. 3 April 2007. <http://cancerci.com/content/7/1/4/abstract>

- Sharin, 2006, Pemprofilan dan Pencirian Melalui LC-MS/MS Terhadap Komponen Aktif Daripada Zinger Ubatan (*Curcuma xanthorrhiza* dan *Zingiber zerumbet*), Tesis, Universiti Putra Malaysia. http://psasir.upm.edu.my/374/2/549096_ib_2006_6_abstrak_je_dh.pdf.pdf
- Sukandar, E. Y., Suganda, A. G., and Kristiana, A. S. R. D. W., 1997, Efek Antihelmintik *Zingiber zerumbet*, terhadap cacing *Ascaris suum*., Majalah Farmasi Indonesia Edisi 8 No. 1, 12-22.
- Tewtrakul, S., and Subhadhirasakul, S., 2007, Anti allergic Activity of Some Selected Plants in the Zingiberaceae Family, J. Ethnopharmacol, 109 (3) : 535-8. Epub 2006 Aug 15. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Tewtrakul%20S%22\[Author\]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Tewtrakul%20S%22[Author])

Korespondensi : Sri Mulyani
Fakultas Farmasi UGM
Skip Utara Yogyakarta 55281